**مقاله پژوهشی**
**مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان**
**دوره دهم، شماره اول، بهار ۱۳۹۰، ۶۱-۴۶**

# اثر محافظت نورونی استروئیدهای جنسی زنانه بعد از جراحت تروماتیک مغزی در موش صحرایی: نقش سیتوکین‌های التهابی

**علیرضا سرکاکی[۱]، محمد خاکساری‌حداد[۲]، زهرا سلطانی[۳]، زکیه کشاورزی[۴]، نادر شاهرخی[۵]، غلامرضا اسدی‌کرم[۶]، رضا عباسی[۷]**

**دریافت مقاله: ۸۹/۱/۳۰ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۹/۳/۱۲ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۹/۷/۷ پذیرش مقاله: ۸۹/۱۰/۵**

**چکیده**

**زمینه و هدف:** مطالعات قبلی نشان دادند که استروژن و پروژسترون خیز مغزی بعد از ضربه مغزی را کاهش می‌دهند، هدف مطالعه حاضر، تعیین می‌کند آیا هورمون های تخمدانی اثر ضد خیزی خود را از طریق تغییر در میزان سیتوکین‌های پیش التهابی اعمال می‌کنند.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه مداخله‌ای - تجربی از ۹۸ موش صحرایی ماده فاقد تخمدان (به جز دو گروه اول) تحت گروه‌های کنترل، شم، حلال، مقدار کم استروژن ($E_1$)، مقدار زیاد استروژن ($E_2$)، مقدار کم پروژسترون ($P_1$) و مقدار زیاد پروژسترون ($P_2$) استفاده شد. حلال و استروئیدها نیم ساعت بعد از ضربه مغزی متوسط و منتشر ایجاد شده به روش مارمارو، به طریق داخل صفاقی تزریق شدند. سیتوکین های پیش التهابی و غلظت هورمون‌های تخمدانی در مغز، ۶ ساعت بعد از ضربه مغزی به وسیله ELISA اندازه‌گیری شدند.

**یافته‌ها:** میزان IL-1β ، توسط $E_2$ و $P_1$ به ترتیب به میزان ۵۲/۸٪ و ۷۹/۲٪ افزایش معنی‌دار پیدا کرد. $P_2$، مقادیر IL-6 و TNF-α را به ترتیب به میزان ۴۵/۹٪ و ۷۲٪ کاهش معنی‌دار داد. توسط TGF-β،$E_1$ به میزان ۳/۳۷ برابر افزایش معنی‌دار پیدا کرد. غلظت بتا-استرادیول در $E_2$ به میزان ۴/۵۸ برابر و غلظت پروژسترون در $P_2$ به میزان ۱/۵۶ برابر افزایش معنی‌دار نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** این نتایج پیشنهاد می‌کنند که احتمالاً هورمون‌های تخمدانی از طریق افزایش IL-1β و TGF-β و کاهش IL-6 و TNF-α اثر ضدخیزی را در ضربه مغزی اعمال می‌کنند.

**واژه‌های کلیدی:** TBI، IL-1β، IL-6، TNF-α، TGF-β، هورمون‌های تخمدانی

۱- (نویسنده مسئول) دانشیار گروه آموزشی فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز
تلفن: ۰۶۱۱-۳۷۳۸۲۴۸، دورنگار: ۰۶۱۱-۳۳۶۱۵۴۴، پست الکترونیکی: sarkaki_a@yahoo.com
۲- استاد گروه آموزشی فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی گروه فیزیولوژی و مرکز آموزشی بین‌الملل بم، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۳- کارشناس ارشد مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۴- دانشجوی دکترای گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۵- استادیار گروه آموزشی فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان
۶- دانشیار گروه آموزشی بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
۷- پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

## مقدمه

بعد از جراحت تروماتیک مغزی (Traumatic Brain Injury) و بعد از ایسکمی مغزی، التهاب داخل جمجمه‌ای رخ می‌دهد و این پاسخ التهابی نقش مهمی در فرآیندهای بهبودی زخم و همچنین در ایجاد آسیب ثانویه مغزی دارد [۱]. کوفتگی مغزی یکی از شکل‌های جراحت تروماتیک مغزی است که غالباً همراه با آسیب‌های تأخیری نورولوژیکی و افزایش فشار داخل جمجمه‌ای است [۲]. مطالعات تجربی نشان دادند که کوفتگی مغزی از طریق ایجاد پاسخ التهابی داخل جمجمه‌ای باعث پیدایش جراحت ثانوی مغزی می‌شود [۳]. عوامل مختلف در مسیر التهاب دارای اثرات متفاوت بوده و همچنین این احتمال وجود دارد که مهار عمومی پاسخ التهابی، فرآیندهای ترمیم یا رژنراتیو را کاهش دهد [۱].

فرآیندهای بعد از جراحت، در سیستم عصبی مرکزی به دو مرحله تقسیم می‌شوند: مرحله جراحت حاد ابتدایی که به وسیله یک مرحله بهبودی ثانویه مزمن دنبال می‌شود [۴]. مرحله جراحت حاد به دو زیر مرحله به نام مرحله اولیه جراحت، که ناشی از اثرات تروما می‌باشد و مرحله بعدی، جراحت پیشرفته که توسط رهایش عوامل شیمیایی و سیتوکین‌ها واسطه می‌شود، تقسیم می‌گردد [۵-۴]. ساخت سیتوکین‌های داخل مغزی در ناحیه اطراف آسیب، هم در مرحله ابتدایی و هم در مرحله ثانویه (تأخیری) در انسان رخ می‌دهد. تنظیم موضعی سیتوکین‌های پیش‌برنده التهاب و ضد التهاب، اختلاف در استفاده از مداخلات فارماکولوژیکی را در درمان ایسکمی مغزی آشکار می‌کند. سیتوکین‌های معینی از قبیل اینترلوکین نمره یک بتا (IL- 1β )، اینترلوکین نمره ۶ (IL-6) و فاکتور نکروزیس توموری آلفا (TNF- α) التهاب را پیش می‌برند، در حالی که سیتوکین‌هایی از قبیل اینترلوکین نمره ۴ (IL-4) و اینترلوکین نمره ۱۰ (IL-10) پاسخ التهابی را در سیستم عصبی مرکزی مهار می‌کنند [۶]. افزایش IL- 1β و TNF-α در مایع مغزی نخاعی و بافت پارانشیم مغزی در ساعات بعد از تروما‌ی مغزی گزارش شده است [۷]؛ افزایش این سیتوکین‌های التهابی به طور بارزی جراحت مغزی ناشی از ایسکمی یا تروما را تشدید می‌کند [۸]. تجویز داخل مغزی IL-1β موجب خیز مغزی و به دنبال آن مرگ سلولی می‌شود [۹]، علاوه براین، گزارش شده است که مرحله مزمن بهبودی، بستگی به افزایش در میزان میانجی‌های مهم برای ترمیم بافت از قبیل فاکتور رشد ترانسفورمینگ بتا (TGF-β) دارد [۵]. TGF-β یک نقش تنظیمی در فعال کردن سیتوکین‌ها در اندوتلیوم مغز داشته [۱۰] و از مهاجرت لکوسیت‌ها در سدّ خونی- مغزی جلوگیری می‌نماید [۱۱].

در مطالعات اخیر نشان داده شده است که استروژن و پروژسترون، خیز مغزی را کاهش داده و برگشت‌پذیری عملکردی بعد از جراحت تروماتیک مغزی را تشدید می‌نمایند [۱۳-۱۲]. از آن جایی که سیتوکین‌های پیش‌برنده التهابی از قبیل IL- 1β، IL-6، TNF-α و TGF-β تشکیل خیز مغزی و از دست دادن نورونی را واسطه می‌کنند [۱۵-۱۴]، فرض بر این شد که اعمال محافظت نورونی این استروئیدهای جنسی زنانه احتمالاً از طریق تضعیف تولید این سیتوکین‌ها اعمال می‌شود.

با توجه به مطالب فوق که فرآیندهای بعد از تروما به دو مرحله حاد و مزمن تقسیم شده و نقش سیتوکین‌ها در هر مرحله متفاوت می‌باشد، به عنوان مثال در جراحت طناب نخاعی، افزایش میزان سیتوکین‌ها در ۳۰ دقیقه بعد



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

از جراحت شروع شده و تا ۲۴ ساعت ادامه دارد [۱۶] و یا سیتوکین‌ها در ساعت اول بعد از ترومای مغز تولید شده و در طی ۲۴ ساعت به تدریج کاهش می‌یابند [۱۷] و از سوی دیگر، اثر مهاری پروژسترون بر روی سیتوکین‌های التهابی وابسته به زمان است [۱۷]، بنابراین هدف مطالعه حاضر تعیین اثر استروژن یا پروژسترون بر روی مقادیر مغزی سیتوکین‌های IL- 1β، TNF-α، IL-6 و TGF-β در ساعت ششم بعد از جراحت تروماتیک مغزی در موش صحرایی ماده فاقد تخمدان بود که واسطه‌گری این سیتوکین‌ها را در عمل محافظت نورونی و عمل ضد خیزی این هورمون‌ها ارزیابی کند. تمامی آزمایش‌ها بر اساس مجوز کمیته اخلاق در پژوهش‌های حیوانی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان (کا/ع/۱۹-۸۷) انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه مداخله‌ای- تجربی، از ۹۸ سر موش صحرایی (Rat) ماده از نژاد Albino NMARI با وزن ۲۵۰-۱۸۰ گرم استفاده شد که این حیوان‌ها ۳ ماهه بوده و قبل از باروری از موش‌های صحرایی نر جدا شدند. حیوان‌ها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد در اتاق حیوانات دانشکده پزشکی کرمان نگهداری شدند، در ضمن آب و غذا آزادانه در اختیار آنها قرار گرفت.

۹۸ حیوان به طور تصادفی به ۷ گروه (تعداد در هر گروه ۱۴) تقسیم شدند که هر گروه دارای دو زیرگروه بود، در یک زیرگروه نمره نورولوژیک (بلافاصله بعد از ضربه، یک ساعت بعد از ضربه، ۴ ساعت بعد از ضربه و ۲۴ ساعت بعد از ضربه) اندازه‌گیری شد و در زیرگروه دیگر سیتوکین‌ها، β- استرادیول و پروژسترون مغزی، ۶ ساعت بعد از ضربه مغزی اندازه‌گیری شد.

گروه۱، گروه کنترل: موش‌های صحرایی ماده طبیعی و سالم هستند. گروه ۲، گروه شم (sham): موش‌های صحرایی ماده‌ای که تخمدان‌های آنها برداشته شده بود، بیهوش شدند، جراحی‌های لازم روی آنها انجام شد و فقط زیر دستگاه ایجادکننده ضربه مغزی قرار گرفتند. گروه۳، گروه حلال: موش‌های صحرایی مادهٔ فاقد تخمدان که هم حجم استروژن یا پروژسترون (۰/۳۳میلی‌لیتر در کیلوگرم)، حلال آنها (روغن کنجد + بنزیل الکل) نیم ساعت [۱۸] بعد از ضربه مغزی به صورت داخل صفاقی به آنها تزریق شد. گروه ۴، گروه مقدار کم یا فیزیولوژیک استروژن (E1): موش‌های صحرایی مادهٔ فاقد تخمدان که ۳۳/۳ میکروگرم در کیلوگرم استروژن [۱۸] به صورت داخل صفاقی نیم ساعت بعد از ضربه مغزی به آنها تزریق شد. گروه ۵، گروه مقدار زیاد یا فارماکولوژیک استروژن (E2) مشابه با گروه ۴ هستند فقط مقدار استروژن ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم [۱۹] بود. گروه ۶، گروه مقدار کم یا فیزیولوژیک پروژسترون (P1): مشابه با گروه ۴ بود، با این تفاوت که پروژسترون با مقدار ۱/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم [۱۸] مصرف شد. گروه۷، گروه مقدار زیاد یا فارماکولوژیک پروژسترون (P2): مشابه با گروه ۶، اما مقدار مصرفی پروژسترون ۸ میلی‌گرم در کیلوگرم [۱۹] بود. استروژن (بتا استرادیول)، پروژسترون و حلال آنها از شرکت دارویی ابوریحان (ایران) خریداری شد.

**روش برداشتن تخمدان‌ها (اوارکتومی):** موش‌های صحرایی ماده، با مخلوط کتامین (۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و رامپون (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بی‌هوش شده و سپس حیوان به پشت خوابانده شده و موهای



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

قسمت تحتانی شکم تراشیده و یک برش افقی به طول ۲ سانتی‌متر ایجاد شد. پوست، فاسیا و عضلات شکم باز شده، چربی‌ها و روده کنار زده شد تا رحم و لوله‌های رحمی مشاهده شوند. لوله رحم و پایه عروقی تخمدان با نخ کاتکوت ۴، در ناحیه پروگزیمال مسدود گردید و از ناحیه دیستال قطع شد و همین عمل در مورد تخمدان سمت دیگر بدن تکرار گردید. در انتها ۲-۱ میلی‌لیتر محلول سرم فیزیولوژی داخل شکم ریخته شد، عضلات و پوست به ترتیب با نخ کاتکوت و سیلک ۲ صفر به روش پیوسته بخیه گردید. محل زخم با محلول بتادین ضدعفونی شد. حیوان‌ها تا ۲ ساعت تحت مراقبت ویژه قرار گرفتند [۲۰]، هیچ یک از آنها حین عمل جراحی یا بعد از آن نمردند. به منظور جلوگیری از تداخل هورمونی، انجام اوارکتومی حداقل دو هفته قبل از هر عملیات دیگری انجام شد.

**روش القاء ضربه مغزی:** روش ایجاد ضربه مغزی متوسط (Moderate) از نوع منتشر (Diffuse) و به روش مارمارو (Marmarou) بود که این روش شباهت زیادی به ضربات وارد شده به مغز انسان داشته و جراحت کامل مغز را شامل می‌شود [۱۲]. عمل دستگاه القاء ضربه مغزی (ساخت گروه فیزیولوژی کرمان) بدین صورت بود که وزنه ۲۵۰ گرمی از داخل ستون شیشه‌ای به ارتفاع ۲ متری به طور آزادانه بر روی سر حیوان بی‌هوش فرود می‌آمد، یک صفحه استیل به منظور پخش یکنواخت ضربه بر روی جمجمه قرار داشت، بعد از القاء ضربه مغزی، حیوان سریعاً به پمپ تنفسی (TSE Animal respirator compact، آلمان) وصل شد، پس از برقراری تنفس خود بخودی، حیوان از دستگاه ونتیلاسیون جدا و به قفس بازگردانده شد [۱۸].

**ارزیابی پیامدهای نورولوژیک:** برای ارزیابی پیامدهای نورولوژیک از روش [Veterinary Coma Scale (V.C.S )] استفاده شد. پیامدهای نورولوژیک به صورت نمره (۱۵-۳) بر اساس جدول ۱ که مجموع سه نمره عمل حرکتی (۸-۱)، عمل چشمی (۴-۱) و عمل تنفسی (۳-۱) می‌باشد [۲۱]، گزارش شد، به طوری که هر چه این نمره بالاتر باشد پیامد نورولوژیک بهتر و هر چه پایین‌تر باشد پیامد نورولوژیک وخیم‌تر است. در این مطالعه، این پیامد فوراً بعد از ضربه، ۱، ۴ و ۲۴ ساعت بعد از آن ضربه اندازه‌گیری گردید [۲۲].

**روش اندازه‌گیری سیتوکین‌ها، استرادیول و پروژسترون در بافت مغزی:** موش‌های صحرایی ۶ ساعت بعد از ضربه با تیوپنتال (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بی‌هوش شدند و سپس مغز از جمجمه خارج شد و توسط نیتروژن مایع منجمد گردید. هموژنیزاسیون مغز توسط دستگاه هموژنایزر انجام گرفت که بدین منظور، ۵۰۰ میلی‌گرم از هر مغز با ۲ میلی‌لیتر بافر (pH=۷/۲) حاوی ۵۰ میلی‌مول Tris، نیم درصد Triton 100-x، ۱۵۰ میلی‌مول Nacl، کوکتل مهارکننده پروتئاز (Roche آلمان) مخلوط شد. محلول هموژنایز شده سپس با سانتریفوژ یخچال‌دار با دور ۴۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و مایع شناور روی آن برای اندازه‌گیری سیتوکین‌ها، β- استرادیول و پروژسترون مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری با کیت‌های ELISA (BMS، آمریکا) مخصوص اندازه‌گیری Il-1β، Il-6، TNF-α و TGF-β و همچنین مخصوص اندازه‌گیری β-استرادیول و پروژسترون در موش صحرایی انجام شد. به طور خلاصه، نمونه‌های مورد نظر به چاهک‌هایی که حاوی آنتی‌بادی اولیه ضد Il-1β، Il-6، TNF-α و TGF-β، β-استرادیول و



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

پروژسترون بودند ریخته شد و پس از نیم ساعت محلول متوقف‌کننده به محیط اضافه گردید. تغییر رنگ کروموژن در طیف نوری ۴۵۰ نانومتر خوانده شد. مقادیر Il-1β، TNF-α، Il-6 و بتا-استرادیول مغز به صورت پیکوگرم در ۱ میلی‌لیتر از هموژنایز مغز و مقادیر TGF-β و پروژسترون مغز به صورت نانوگرم در ۱ میلی‌لیتر از هموژنایز مغز بیان گردید [۲۳].

***جدول ۱- معیارهای پیامد نورولوژیک***

| متغیر | | نمره |
|---|---|---|
| عمل حرکتی | طبیعی | ۸ |
| | خواب آلودگی خفیف باحرکات خودبخودی و هدف‌دار | ۷ |
| | خواب آلودگی، قادرنبودن به ایستادن، اما حفظ خمیدگی سخت | ۶ |
| | خواب آلودگی، عقب کشیدن در برابر نیشگون گرفتن، بلندکردن سر نسبت به محرکات بینایی، بدون خمیدگی سخت | ۵ |
| | عقب کشیدن یا پا زدن در برابر نیشگون گرفتن | ۴ |
| | پا زدن خودبخودی | ۳ |
| | وضعیت اکستانسیون (خودبخودی یا در برابر محرکات) | ۲ |
| | پاسخ ندادن به تحریکات | ۱ |
| عمل چشمی | طبیعی | ۴ |
| | بازشدن در برابر تحریکات | ۳ |
| | طبیعی بودن رفلکس‌های پلک | ۲ |
| | پاسخ ندادن پلک به تحریکات | ۱ |
| عمل تنفسی | طبیعی | ۳ |
| | آتاکسی | ۲ |
| | آپنه | ۱ |



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

**آنالیزآماری داده‌ها:** داده‌های کمّی به دست آمده برای گروه‌های مختلف توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تجزیه و تحلیل شده و در صورت معنی‌دار شدن آزمون اولیه، برای پی بردن اختلاف بین گروه‌ها آزمون LSD استفاده شد. همه داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار میانگین بیان شدند و نتایج با $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

**افزایش میزان مغزی IL- 1β بعد از درمان با استروژن یا پروژسترون:** مقدار IL-1β در گروه ترومای مغزی تحت درمان با حلال (۱۷۸/۷±۲۲/۷پیکوگرم در میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه‌های شم (۳۳۴/۸±۴۰/۱ پیکوگرم در میلی‌لیتر) و کنترل (۳۴۷/۹±۲۳/۴ پیکوگرم در میلی‌لیتر) کاهش یافته بود ($p<۰/۰۰۱$). مقدار IL-1β به دنبال مصرف مقدار فارماکولوژیک استروژن ($p<۰/۰۱$، ۲۷۲/۷±۱۷/۸ پیکوگرم در میلی‌لیتر) یا مقدار فیزیولوژیک پروژسترون ($p<۰/۰۰۱$، ۳۱۹/۸±۲۷/۳ پیکوگرم در میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه تحت درمان با حلال افزایش معنی‌دار پیدا کرد؛ علاوه براین، بین مقادیر فیزیولوژیک (۱۵۸/۵±۱۰/۲ پیکوگرم در میلی‌لیتر) و فارماکولوژیک (۲۷۲/۷±۱۷/۸ پیکوگرم در میلی‌لیتر) استروژن نیز اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p<۰/۰۱$). همین اختلاف بین مقادیر مختلف پروژسترون نیز مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$).

**کاهش مقدار IL-6 مغزی بعد از درمان با پروژسترون:** اگر چه به دنبال جراحت تروماتیک مغزی، میزان IL-6 در گروه ترومای مغزی تحت درمان با حلال (۶۲۹/۱±۲۸/۴ پیکوگرم در میلی‌لیتر) نسبت به گروه‌های شم (۵۰۲/۸±۱۵۷ پیکوگرم در میلی‌لیتر) و کنترل (۷۳۱/۱±۴۰/۱ پیکوگرم در میلی‌لیتر) اختلاف معنی‌دار ندارد، اما مصرف مقدار فارماکولوژیک پروژسترون مقدار IL-6 مغزی (۳۴۰/۳±۵۲/۷ پیکوگرم در میلی‌لیتر) را در مقایسه با گروه تحت درمان با حلال کاهش داده است ($p<۰/۰۵$)؛ علاوه بر این، مقادیر فیزیولوژیک (۵۹۳/۳±۹۳/۱ پیکوگرم در میلی‌لیتر) و فارماکولوژیک پروژسترون با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند ($p<۰/۰۵$) هیچ یک از گروه‌های دیگر یعنی مقادیر فیزیولوژیک (۴۸۲/۸±۱۶۷/۵ پیکوگرم در میلی‌لیتر) و فارماکولوژیک (۵۵۱/۹±۲۳/۶ پیکوگرم در میلی‌لیتر) استروژن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند.

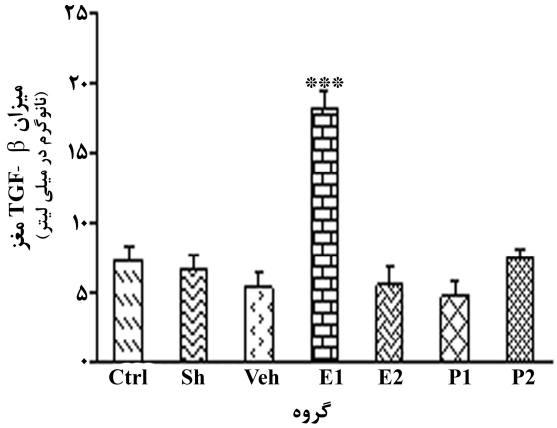
**کاهش مقدار TNF-α مغزی بعد از درمان با پروژسترون:** مقدار TNF-α مغزی در ساعت ششم ترومای مغزی در گروه تحت درمان با حلال (۲۸۷/۲±۴۲/۶ پیکوگرم در میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه‌های شم (۴۶۲/۱±۷۴/۴ پیکوگرم در میلی‌لیتر) و کنترل (۴۶۱/۳±۲۰/۸ پیکوگرم در میلی‌لیتر) کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) را نشان داد. مصرف مقدار فارماکولوژیک پروژسترون (۸۰/۴±۱۰/۹ پیکوگرم در میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه‌های تحت درمان با حلال یا مقدار فارماکولوژیک استروژن (۴۳۷/۴±۹۸/۳ پیکوگرم در میلی‌لیتر)، یا مقدار فیزیولوژیک پروژسترون (۴۰۵/۱±۵۷/۱ پیکوگرم در میلی‌لیتر) باعث کاهش معنی‌دار میزان TNF-α شد ($p<۰/۰۱$)، علاوه بر این، بین مقادیر فیزیولوژیک (۲۰۰/۲±۳۷/۹۶ پیکوگرم در میلی‌لیتر) و فارماکولوژیک استروژن اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($p<۰/۰۱$)، بدین معنی‌که میزان TNF-α در گروه مقدار فیزیولوژیک کمتر از مقدار فارماکولوژیک است.



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

**افزایش میزان TGF-β مغزی بعد از درمان با استروژن:** در نمودار ۱، تغییرات میزان TGF-β مغزی در گروه‌های مختلف مطالعه نشان داده شده است. اندازه‌گیری مقدار TGF-β مغزی نشان‌دهنده عدم تغییر میزان آن در گروه تروما‌ی تحت درمان با حلال (۷/۴±۰/۸ نانوگرم در میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه‌های شم (۶/۶±۱/۱ نانوگرم در میلی‌لیتر) و کنترل است. گروه تحت درمان با مقدار فیزیولوژیک استروژن (۱۸/۲±۱/۱ نانوگرم در میلی‌لیتر) باعث افزایش میزان TGF-β در مقایسه با گروه تحت درمان با حلال شده است (p<۰/۰۰۱)؛ همچنین میزان TGF-β در مقدار فیزیولوژیک به طور معنی‌داری بیشتر از بقیه گروه‌ها می‌باشد (p<۰/۰۰۱).




***نمودار ۱- اثر مصرف استروژن و پروژسترون بر روی میزان TGF-β (نانوگرم در میلی‌لیتر) در ۶ ساعت بعد از ضربه مغزی منتشر در موش‌های صحرایی ماده (n=۷). E1: مقدار فیزیولوژیک استروژن، E2: مقدار فارماکولوژیک استروژن، P1: مقدار فیزیولوژیک پروژسترون، P2: مقدار فارماکولوژیک پروژسترون. ***: اختلاف معنی‌دار گروه E1 با گروه حلال (p< ۰/۰۰۱).***

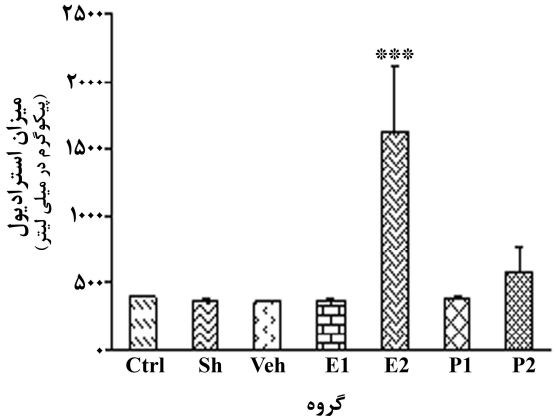
**نتایج مربوط به اندازه‌گیری پیامدهای نورولوژیک:** یک ساعت قبل از ضربه، نمره نورولوژیک در همه گروه‌ها ۱۵ بود. در لحظه صفر، یعنی فوراً بعد از جراحت تروماتیک مغزی نمره پیامد نورولوژیک در گروه حلال (۴/۴±۰/۲)کمتر از گروه شم [۱۵] بود (p<۰/۰۰۱). در یک ساعت بعد از جراحت تروماتیک مغزی نمره پیامد نورولوژیک در گروه حلال (۹/۵±۰/۵) کمتر از گروه‌های شم (۱۵، p<۰/۰۰۱)، E1 (p<۰/۰۰۱، ۱۲±۰/۴)، E2 (p<۰/۰۰۱، ۱۲/۴±۰/۵)، P1 (p< ۰/۰۰۱، ۱۳/۶±۰/۲) و P2 (p<۰/۰۱، ۱۱/۳±۰/۵) بود. در۴ ساعت بعد از جراحت تروماتیک مغزی این نمره (۱۲/۴±۰/۴) در گروه حلال (۱۲/۴±۰/۴) کمتر از گروه‌های شم (p<۰/۰۰۱، ۱۵)، E1 (p<۰/۰۱، ۱۳/۸±۰/۳) و P1 (p<۰/۰۱،۱۴±۰/۳) و در این زمان نمره درگروه‌های E2 ۱۳/۲±۰/۳ و P2 ۱۲/۵±۰/۲ بود. در ۲۴ ساعت بعد از جراحت تروماتیک مغزی این نمره (۱۳/۲±۰/۳) در گروه حلال (۱۳/۲±۰/۳) کمتر از گروه‌های شم (p<۰/۰۰۱، ۱۵)، E1 (p<۰/۰۱، ۱۴/۵±۰/۲)، E2 (p<۰/۰۱،۱۴/۲±۰/۲) و P1 (p<۰/۰۱، ۱۴/۴±۰/۴) و در این زمان نمره در گروه P2 ۱۳±۰/۳ بود.

**تغییرات در غلظت استروژن یا پروژسترون در بافت مغزی:** غلظت استروژن در گروه‌های مختلف مطالعه در نمودار ۲ نمایش داده شده است. غلظت بتا-استرادیول در گروه شم ۳۶۸/۱±۱۲/۸ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود که بعد از تروما (جراحت تروماتیک مغزی) غلظت آن در گروه تحت درمان با حلال به میزان ۳۵۳/۲±۵/۶ پیکوگرم در میلی‌لیتر رسید که با یکدیگر و با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار نداشت. مصرف مقدار فارماکولوژیک استروژن باعث افزایش معنی‌دار غلظت بتا-استرادیول مغزی (۱۶۱۹/۷±۴۸۴/۹ پیکوگرم در میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه تحت درمان با حلال شد (p<۰/۰۰۱).

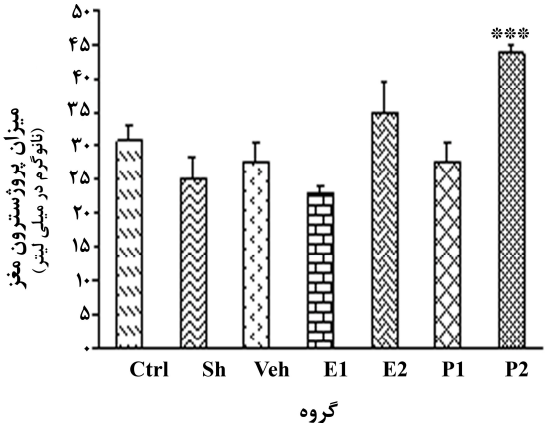


[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]




***نمودار۲- اثر مصرف استروژن و پروژسترون بر روی میزان بتا – استرادیول (pg/ml) در ۶ ساعت بعد از ضربه مغزی منتشر در موش‌های صحرایی ماده (n=۷). E1: مقدار فیزیولوژیک استروژن، E2: مقدار فارماکولوژیک استروژن، P1: مقدار فیزیولوژیک پروژسترون، P2: مقدار فارماکولوژیک پروژسترون. ***: اختلاف معنی‌دار گروه E2 با گروه حلال و سایر گروه‌ها (p< ۰/۰۰۱).***




***نمودار۳- اثر مصرف استروژن و پروژسترون بر روی میزان پروژسترون (ng/ml) در ۶ ساعت بعد از ضربه مغزی منتشر در موش‌های صحرایی ماده (n=۷). E1: مقدار فیزیولوژیک استروژن، E2: مقدار فارماکولوژیک استروژن، P1: مقدار فیزیولوژیک پروژسترون، P2: مقدار فارماکولوژیک پروژسترون. ***: اختلاف معنی‌دار گروه P2 با گروه حلال و سایر گروه‌ها (p<۰/۰۰۱).***

علاوه بر این، غلظت بتا-استرادیول در این گروه از بقیه گروه‌های تحت درمان با مقادیر مختلف پروژسترون یا مقدار فیزیولوژیک استروژن بیشتر بود (p<۰/۰۰۱). غلظت پروژسترون در بافت مغزی در گروه‌های مختلف در نمودار ۳ نشان داده شده است. غلظت پروژسترون در گروه شم ۲۵/۲±۳/۳ نانوگرم در میلی‌لیتر بود، که بعد از تحت درمان قرار گرفتن گروه ترومایی با حلال، غلظت آن ۲۷/۹±۲/۵ نانوگرم در میلی‌لیتر شد که دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و با گروه کنترل نمی‌باشد. گروه تحت درمان با مقدار فارماکولوژیک پروژسترون باعث افزایش غلظت پروژسترون بافت مغزی به میزان ۴۳/۶±۱/۴ نانوگرم در میلی‌لیتر شد که دارای اختلاف معنی‌داری با گروه تحت درمان با حلال است (p<۰/۰۰۱)؛ هم چنین غلظت پروژسترون در این گروه بیشتر از مقادیر فیزیولوژیک یا فارماکولوژیک استروژن و نیز مقدار فیزیولوژیک پروژسترون بود (p<۰/۰۰۱).

## بحث

مطالعه حاضر نشان داد که مصرف مقدار فارماکولوژیک (زیاد) پروژسترون به دنبال جراحت تروماتیک مغزی باعث کاهش میزان IL-6 و TNF-α در ۶ ساعت بعد از جراحت می‌شود. از آن جایی که جراحت تروماتیک مغزی، منجر به افزایش میزان IL-6 و TNF-α مغزی در مرحله حاد جراحت (۶ ساعت بعد از جراحت) می‌شود، کاهش ساخت این دو سیتوکین در مراحل اولیه بعد از جراحت توسط پروژسترون، هم زمان با افزایش بیان ژن و ساخت حداکثری این دوسیتوکین در این زمان است [۱۷]. مصرف مقدار فیزیولوژیک پروژسترون یا مقدار فارماکولوژیک استروژن در مقایسه با حلال، باعث افزایش میزان IL-1β می‌شود؛ علاوه بر این مصرف پروژسترون اثری روی میزان ساخت TGF-β نداشت، اما مصرف مقدار فیزیولوژیک استروژن باعث افزایش میزان TGF-β در زمان مراحل اولیه بعد از جراحت می‌شود. به نظر می‌رسد که



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]
[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

مقدار فیزیولوژیک استروژن افزایش این سیتوکین را در زمانی موجب می‌شود که کاهش حداکثری برای آن بعد از جراحت تروماتیک مغزی وجود داشته است.

نتایج مطالعه حاضر نشان‌گر اثرات وابسته به مقدار هورمون‌های استروئیدی جنسی بر روی میزان سیتوکین‌های مختلف در مرحله حاد جراحت می‌باشد، یعنی فقط مقدار فارماکولوژیک پروژسترون روی کاهش IL-6 و TNF-α اثر داشته و مقدار فیزیولوژیک آن فاقد اثر است، از سوی دیگر، فقط مقدار زیاد استروژن و یا مقدار اندک استروژن به ترتیب باعث افزایش IL-1β و افزایش TGF-β می‌شوند.

نتایج این مطالعه در ارتباط با تغییر موقتی در میزان سیتوکین‌های IL-1β، TNF-α، IL-6 و TGF-βبه علت جراحت، هماهنگ با مطالعات انجام شده روی مدل‌های حیوانی و انسانی می‌باشد، به طوری که گزارش شده است، تغییر در میزان این سیتوکین‌ها در مدل‌های مختلف جراحت از قبیل ایسکمی مغزی قدامی [۲۳]، جراحت Fluid-Percussion [۲۳]، جراحت طناب نخاعی [۱۶]، کوفتگی مغزی در انسان [۲۴] و جراحت تروماتیک تجربی در مغز [۵- ۴] معمولاً در ۳۰ دقیقه بعد از جراحت شروع شده و تا ۲۴ ساعت بعد از آن ادامه دارد؛ علاوه بر این تغییرات وابسته به مقدار توسط مطالعات دیگران نیز تأیید شده است: در موش صحرایی فقط مقدار زیاد و نه مقدار کم پروژسترون، حجم آسیب را به دنبال ایسکمی مغزی کاهش می‌دهد [۲۵]. پروژسترون دارای عمل محافظت نورونی وابسته به مقدار و زمان در سکته تجربی است [۲۶]. در مقدار بالای پروژسترون، جراحت مغزی تشدید شده [۲۷]، در حالی که مقدار کمتر آن دارای اثر محافظت نورونی است [۲۶].

چندین ساز وکار احتمالی برای اثر ضدخیزی استروئیدهای جنسی مطرح است که یکی از این سازوکارها تغییر میزان مغزی IL-1β است. افزایشIL-1β بعد از جراحت مغزی همانند آن چه که در مطالعه حاضر برای موش صحرایی مطرح شد، برای موش سوری بعد از ایسکمی مغزی [۲۸]، برای موش‌های صحرایی بعد از ایسکمی [۲۹]، بعد از آسیب‌های مغزی و بعد از جراحت تروماتیک مغزی [۳۰] نیز گزارش شده است.

اگر چه در مطالعه حاضر، میزان IL-1β در گروه تحت درمان با حلال کاهش یافته است، اما استروژن و پروژسترون در مقایسه با حلال آن را افزایش داده‌اند که چند احتمال مطرح می‌شود: استروژن در مرحله اول جراحت (۶ ساعت بعد از تزریق) باعث افزایش و در مرحله‌های بعدی باعث کاهش می‌شود، یا شاید واقعاً این هورمون‌ها باعث افزایش سیتوکین‌های التهابی می‌شوند و التهاب‌زا هستند [۳۱]، همچنین شاید این هورمون‌ها در غلظت‌های به کار برده شده در این مطالعه مؤثر نبوده‌اند، همان‌طور که توسط مطالعات دیگران نیز گزارش شده است [۳۲-۲۸] و یا این که چون ۴۸ ساعت بعد از جراحت تروماتیک مغزی حداکثر غلظت IL-1β، به وجود می‌آید [۳۳] با توجه به زمان اندازه‌گیری، ۶ ساعت بعد از جراحت تروماتیک مغزی اثرات این هورمون نشان داده نشده است؛ بنابراین، اثرات محافظت نورونی این هورمون‌ها بر روی خیز مغزی احتمالاً از طریق سازوکارهای دیگر از قبیل عمل بر روی نفوذپذیری سد خونی- مغزی، عمل آنتی‌اکسیدانی آن‌ها، کاهش ماتریکس متالوپروتئیناز نمره-۲ ، تغییرات در گیرنده‌های گابا و یا کاهش تولید نیتریک‌اکساید و پروستاگلاندین $E_2$ ناشی از IL-1β، محدود کردن نکروزیس و آپوپتوزیس سلولی و



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

کاهش گیرنده‌های IL-1β [۳۵- ۳۴، ۲۸] اعمال شده است.

تعدادی از مطالعات، اثرات کاهشی استروژن [۳۶] و پروژسترون [۲۸-۱۷] را بر روی IL-1β بعد از جراحت نشان داده‌اند که دلایل احتمالی اختلاف نتایج آن‌ها با مطالعه حاضر بستگی به نوع و شدت جراحت، مقدار مصرفی و زمان مصرف هورمون‌ها و همچنین نوع حلال به کار برده شده، دارد.

مقدار زیاد پروژسترون، میزان IL-6 و TNF-α را بعد از جراحت تروماتیک مغزی کاهش داده است که این نتیجه با نتایج مطالعات دیگران هماهنگ است [۳۷-۳۰]. پروژسترون احتمالاً از طریق کاهش این دو سیتوکین، التهاب و خیز مغزی را کاهش داده است و این که اثر پروژسترون بر روی IL-6 و TNF-α به مقدار مصرفی آن بستگی دارد؛ اگر چه دیگر سازوکارهای ضد التهابی برای این هورمون را که در فوق برای استروژن بیان شد، نباید از نظر دور داشت. تعدادی از پژوهش‌ها در مدل‌های دیگر جراحت، اثر کاهش پروژسترون روی IL-6 [۳۸] و TNF-α [۳۶-۲۸] را تأیید ننموده‌اند، که دلایل احتمالی این اختلاف مربوط به نوع، شدت جراحت و مقدار مصرفی پروژسترون می‌باشد. مطالعات دیگر نیز عدم تأثیر استروژون روی IL-6 [۳۸] و TNF-α [۳۲] را گزارش نموده‌اند؛ اگر چه اثر کاهشی استروژن بر روی این سیتوکین‌ها نیز گزارش شده است [۳۹] که دلایل احتمالی تفاوت نتایج این مطالعات با نتیجه مطالعه حاضر، مطالب مطرح شده در فوق است.

در آسیب‌های ناشی از جراحت تروماتیک مغزی، TGF-β باعث مهار تولید سیتوکین‌ها و رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود [۴۰] و تولید موضعی آن که در مغز و همچنین توسط لکوسیت‌های فعال نشان داده شده است و باعث تضعیف التهاب مغزی می‌شود [۴۱]. در مطالعه حاضر، مقدار کم استروژن باعث افزایش شدید TGF-β شده است که این نتیجه هماهنگ با نتیجه مطالعه دیگری است [۴۲]؛ بنابراین احتمالاً یکی از سازوکارهای ضدالتهابی استروژن علاوه بر سازوکارهای دیگر، افزایش TGF-β است. پروژسترون بر روی میزان TGF-β اثر نداشت. اما تعدادی پژوهش نیز اثر پروژسترون را روی TGF-β گزارش نموده‌اند [۴۲-۲۸]. استروژن احتمالاً از طریق سازوکارهای زیر افزایش TGF-β را موجب شده است: افزایش IL-1β [۳۴]، تغییر در رهایش سیتوکین‌ها از نورون‌های مغزی و سلول‌های خونی و جلوگیری از تخریب سد خونی- مغزی[۴۳].

نتایج بخش دیگر این پژوهش نشان دادند که غلظت بتا-استرادیول مغز تنها در گروه مقدار زیاد استروژن در مقایسه با حلال افزایش پیدا کرد. احتمالاً اثر افزایشی این هورمون روی IL-1β، در مقایسه با مقدار اندک استروژن به علت افزایش غلظت آن در مغز می‌باشد و عدم تأثیر مقدار اندک استروژن و پروژسترون بر روی IL-1β، شاید به علت عدم افزایش غلظت بتا-استرادیول مغزی در این گروه‌ها باشد؛ از سوی دیگر در حالی که در گروه مقدار اندک، بتا-استرادیول مغزی افزایش پیدا نکرده است اما اثر افزایشی آن روی TGF-β مشاهده شد، این بدین معنی است که شاید افزایش غلظت بتا-استرادیول مغزی نقش منفی روی افزایش TGF-β داشته باشد. همچنین علی‌رغم این که غلظت مغزی بتا-استرادیول برای دو گروه یکسان نمی‌باشد و غلظت بتا-استرادیول در گروه مقدار زیاد، حداقل ۴ برابر مقدار کم است، اما عدم تأثیر آنها روی میزان‌های IL-6 و TNF-α یکسان است که این اثر



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

یکسان بدون توجه به غلظت مغزی، توسط مطالعه دیگری که روی خیز مغزی ناشی از ایسکمی انجام شده، تأیید گردیده است [۳۴]. غلظت مغزی پروژسترون در گروه مقدار زیاد پروژسترون تقریباً ۱/۵ برابر غلظت آن در گروه‌های حلال و مقدار کم می‌باشد و شاید همین تفاوت غلظتی، علت اختلاف نتایج در گروه‌های پروژسترون در اثرگذاری روی IL-1β ، IL-6 و TNF-α می‌باشد، یعنی افزایش غلظت مغزی پروژسترون برای کاهش IL-6 و TNF-α لازم است، در حالی که این افزایش برای اثرگذاری بر روی IL-1β لازم نیست.

در بخش دیگر این مطالعه که نمره نورولوژیک اندازه‌گیری شد، مشخص گردید یک ساعت بعد از تروما، هم استروژن و هم پروژسترون در مقادیر کم و زیاد توانایی افزایش نمره نورولوژیک را در مقایسه باگروه حلال دارند. اما وقتی که نمره نورولوژیک ۴ ساعت بعد از تروما اندازه‌گیری شد تنها، مقدار کم استروژن و پروژسترون نمره نورولوژیک را در مقایسه با حلال افزایش دادند. در ساعت بیست و چهارم بعد از تروما، اثر مقدار کم استروژن و پروژسترون بر روی افزایش نمره نورولوژیک باقی‌مانده است و اثر مقدار زیاد استروژن بر روی افزایش نمره نورولوژیک، نیز در این زمان آشکار می‌شود؛ بنابراین، در زمان‌های۱، ۴ و۲۴ که نمره نورولوژیک اندازه‌گیری شده است مقدار فیزیولوژیک استروژن و پروژسترون، در همه این زمان‌ها برای افزایش نمره نورولوژیک مفید می‌باشد.

از آن جایی که بر اساس نمره‌های نورولوژیک، جراحت تروماتیک مغز بر اساس نمره کسب شده به ۳ گروه خفیف، متوسط و شدید تقسیم می‌شود [۴۴]، که افزایش نمره نورولوژیک در بهبودی عملکردی بعد از جراحت تروماتیک مغز مفید خواهد بود و یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که در ساعت اول بعد از ضربه مصرف هر کدام از هورمون‌های تخمدانی در مقادیر کم و زیاد دارای این عمل مفید هستند. اما در طول زمان ۲۴ ساعت اثر مقدار کم استروژن و پروژسترون و مقدار زیاد استروژن باقی می‌ماند و نشان‌دهنده این است که اثر پروژسترون بر روی نمره نورولوژیک، مثل بسیاری از اثرات آن وابسته به مقدار و زمان است [۲۷-۲۶]. در حالی که اثر استروژن هم در مقدار کم و هم در مقدار زیاد برای افزایش نمره نورولوژیک در طول زمان، وجود دارد. شاید این اثرات متفاوت مقادیر مختلف هورمون‌های جنسی بر روی نمره نورولوژیک در طول زمان، مربوط به تغییرات غلظت هورمون‌های جنسی در مغز در طول زمان باشد و با توجه به نتایج بررسی سیتوکین‌های مغزی در ۶ ساعت بعد از ضربه مغزی، شاید بتوان گفت اثرات متفاوت هورمون‌های جنسی زنانه بر روی نمره نورولوژیک در طول زمان از طریق تغییرات سیتوکین‌های مغزی واسطه می‌شود که در این زمینه احتیاج به پژوهش‌های بیشتری است.

**نتیجه‌گیری**

در مجموع پژوهش حاضر نشان داد که حداقل قسمتی از ویژگی حفاظت نورونی هورمون‌های استروئیدی جنسی در کاهش خیز مغزی که از نتایج مهم و فوری جراحت تروماتیک مغز است و هم چنین بهبودی پیامدهای نورولوژیک، احتمالاً از طریق تغییر در میزان سیتوکین‌های مغزی یعنی افزایش IL-1β و TGF-β و کاهش IL-6 و TNF-α به انجام می‌رسد که این اثرات هورمون‌ها بستگی به مقدار مصرفی آن‌ها دارد. این اثرات ممکن است مستقیم یا غیرمستقیم باشد، یا اینکه ممکن است با واسطه گیرنده‌های داخل سلولی یا گیرنده‌های غشایی این استروئیدهای جنسی اعمال شود. جهت مشخص نمودن



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

مسیر اعمال اثرات هورمون‌های فوق نیاز بـه پـژوهش‌هـای بیشتری است.

**تشکر و قدردانی**

این مقاله حاصل تلاش طرح تحقیقاتی می‌باشد که در مرکز تحقیقات علوم اعصاب اهواز و کرمان تصویب شده اسـت. بـدین وسیله از زحمات رؤسای این مراکز و بقیـه همکـاران تـشکر بـه عمل می‌آید، همچنین از جناب آقای دکتر مـشتاقی کاشـانیان، آقای رجبی، سرکار خانم یزدان‌پناه، آقای قطبی، آقای بخـشی و آقای گوهرگزی نیز تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

# References

[1] Morganti-Kossmann MC, Rancan M, Stahel PF, Kossmann T. Inflammatory response in acute traumatic brain injury: a double-edged sword. *Curr Opin Crit Care* 2002; 8(2): 101-5.

[2] Unterberg A, Kiening K, Schmiedek P, Lanksch W. Long-term observations of intracranial pressure after severe head injury. The phenomenon of secondary rise of intracranial pressure. *Neurosurgery* 1993; 32(1): 17-24.

[3] Holmin S, Schalling M, Hojeberg B, Nordqvist AC, Skeftruna AK, Mathiesen T. Delayed cytokine expression in rat brain following experimental contusion. *J Neurosurg* 1997; 86(3): 493-504.

[4] Morrison B, Saatman KE, Meaney DF, McIntosh TK. In vitro central nervous system models of mechanically induced trauma: a review. *J Neurotrauma* 1998; 15(11): 911-28.

[5] Mclntosh TK, Juhler M, Wieloch T. Novel pharmacologic strategies in the treatment of experimental traumatic brain injury: 1998. *J Neurotrauma* 1998;15(10):731-69.

[6] Olsson T. Critical influences of the cytokine orchestration on the outcome of myelin antigen-specific T-cell autoimmunity in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Immunol Rev* 1995; 144: 245-68.

[7] Ross SA, Halliday MI, Campbell GC, Byrnes DP, Rowlands BJ. The presence of tumour necrosis factor in CSF and plasma after severe head injury. *Br Neurosurg* 1994; 8(4): 419-25.

[8] Lawrence CB, Allan SM, Rothwell NJ. Interleukin-1beta and the interleukin-1 receptor antagonist act in the striatum to modify excitotoxic brain damage in the rat. *Eur J Neurosci* 1998; 10(3): 1188-95.

[9] Holmin S, Mathiesen T. Intracerebral administration of interleukin-1beta and induction of inflammation, apoptosis, and vasogenic edema. *J Neurosurg* 2000; 92(1): 108-20.



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

[10] Dore-Duffy P, Balabanov R, Washington R, Swanborg RH. Transforming growth factor beta 1 inhibits cytokine-induced CNS endothelial cell activation. *Mol Chem Neuropathol* 1994; 22(3): 161-75.

[11] Fee DB, Sewell DL, Andresen K, Jacques TJ, Piaskowski S, Barger BA, et al. Traumatic brain injury increases TGF beta RII expression on endothelial cells. *Brain Res* 2004; 1012(1-2): 52-9.

[12] Ahmad molaie L, Khaksari M, Sepehri G, Dabiri S, Asadikaram G, Mahmodi M, et al. Comparison of the effects of progesterone, allopregnanolone and gender on supressing edema formation after traumatic brain injury. *J Kerman Univ Med Sci* 2007; 15(1): 47. [Farsi]

[13] Shahrokhi N, Khaksari M, Soltani Z, Nekhai N, Mahmodi M, Nemati A. The effect of sex steroid hormones on brain edema and intracranial pressure after experimental traumatic brain injury in rats. *J Semnan Univ Med Sci* 2008; 9(4): 263-72. [Farsi]

[14] Patel HC, Boutin H, Allan SM. Interleukin-1 in the brain: mechanisms of action in acute neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 992: 39-47.

[15] Raivich G, Liu ZQ, Kloss CU, Labow M, Bluethmann H, Bohatschek M. Cytotoxic potential of proinflammatory cytokines: combined deletion of TNF receptors TNFR1 and TNFR2 prevents motoneuron cell death after facial axotomy in adult mouse. *Exp Neurol* 2002;178(2):186-93.

[16] Streit WJ, Semple-Rowland SL, Hurley SD, Miller RC, Popovich PG, Stokes BT. Cytokine mRNA profiles in contused spinal cord and axotomized facial nucleus suggest a beneficial role for inflammation and gliosis. *Exp Neurol* 1998; 152(1): 74-87.

[17] He J, Evans CO, Hoffman SW, Oyesiku NM, Stein DG. Progesterone and allopregnanolone reduce inflammatory cytokines after traumatic brain injury. *Exp Neurol* 2004; 189(2): 404-12.

[18] O'Connor CA, Cernak I, Vink R. Both estrogen and progesterone attenuate edema formation following diffuse traumatic brain injury in rats. *Brain Res* 2005; 1062(1-2): 171-4.

[19] Galani R, Hoffman SW, Stein DG. Effects of the duration of progesterone treatment on the resolution of cerebral edema induced by cortical contusions in rats. *Restor Neurol Neurosci* 2001; 18(4): 161-6.

[20] Shahabinejad M, Khaksari M. Inspection of 17-beta estradiol effect on wound recovery in ovarectomized rats. *J Semnan Univ Med Sci* 2001; 3(1,2): 1-10. [Farsi]

[21] Feuerstein GZ, Wang X, Barone FC. Inflammatory gene expression in cerebral ischemia and trauma. Potential new therapeutic targets. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 825: 179-93.

[22] King DR, Cohn SM, Proctor KG. Changes in intracranial pressure, coagulation, and neurologic outcome after resuscitation from experimental



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

traumatic brain injury with hetastarch. *Surgery* 2004; 136(2): 355-63.

[23] Taupin V, Toulmond S, Serrano A, Benavides J, Zavala F. Increase in IL-6, IL-1 and TNF levels in rat brain following traumatic lesion. Influence of pre- and post- traumatic treatment with Ro5 4864, a peripheral-type (p site) benzodiazepine ligand. *J Neuroimmunol* 1993; 42(2): 177-85.

[24] Holmin S, Hojeberg B. In situ detection of intracerebral cytokine expression after human brain contusion. *Neurosci Lett* 2004; 369(2): 108-14.

[25] Kumon Y, Kim SC, Tompkins P, Stevens A, Sakaki S, Loftus CM. Neuroprotective effect of postischemic administration of progesterone in spontaneously hypertensive rats with focal cerebral ischemia. *J Neurosurg* 2000; 92(5): 848-52.

[26] Murphy SJ, Littleton-Kearney MT, Hurn PD. Progesterone administration during reperfusion, but not preischemia alone, reduces injury in ovariectomized rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002; 22(10): 1181-8.

[27] Murphy SJ, Traystman RJ, Hurn PD, Duckles SP. Progesterone exacerbates striatal stroke injury in progesterone-deficient female animals. *Stroke* 2000; 31(5): 1173-8.

[28] Gibson CL, Constantin D, Prior MJ, Bath PM, Murphy SP. Progesterone suppresses the inflammatory response and nitric oxide synthase-2 expression following cerebral ischemia. *Exp Neurol* 2005; 193(2): 522-30.

[29] Minami M, Kuraishi Y, Yabuuchi K, Yamazaki A, Satoh M. Induction of interleukin-1 beta mRNA in rat brain after transient forebrain ischemia. *J Neurochem* 1992; 58(1): 390-2.

[30] Chen G, Shi J, Jin W, Wang L, Xie W, Sun J, et al. Progesterone administration modulates TLRs/NF-kappaB signaling pathway in rat brain after cortical contusion. *Ann Clin Lab Sci* 2008; 38(1): 65-74.

[31] Cutolo M, Capellino S, Sulli A, Serioli B, Secchi ME, Villaggio B, et al. Estrogens and autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1089: 538-47.

[32] Lacut K, Oger E, Le Gal G, Blouch MT, Abgrall JF, Kerlan V, et al. Differential effects of oral and transdermal postmenopausal estrogen replacement therapies on C-reactive protein. *Thromb Haemost* 2003; 90(1): 124-31.

[33] Maegele M, Sauerland S, Bouillon B, Schafer U, Trubel H, Riess P, et al. Differential immunoresponses following experimental traumatic brain injury, bone fracture and "two-hit"-combined neurotrauma. *Inflamm Res* 2007; 56(8): 318-23.

[34] Hoffman GE, Merchenthaler I, Zup SL. Neuroprotection by ovarian hormones in animal models of neurological disease. *Endocrine* 2006; 29(2): 217-31.

[35] Liu R, Wen Y, Perez E, Wang X, Day AL, Simpkins JW, et al. 17beta-Estradiol attenuates blood-brain



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

barrier disruption induced by cerebral ischemia-reperfusion injury in female rats. *Brain Res* 2005; 1060(1-2): 55-61.

[36] Houdeau E, Moriez R, Leveque M, Salvador-Cartier C, Waget A, Leng L, et al. Sex steroid regulation of macrophage migration inhibitory factor in normal and inflamed colon in the female rat. *Gastroenterology* 2007; 132(3): 982-93.

[37] Cutler SM, Cekic M, Miller DM, Wali B, VanLandingham JW, Stein DG. Progesterone improves acute recovery after traumatic brain injury in the aged rat. *J Neurotrauma* 2007; 24(9): 1475-86.

[38] Jonsson D. The biological role of the female sex hormone estrogen in the periodontium--studies on human periodontal ligament cells. *Swed Dent J Suppl* 2007; 187: 11-54.

[39] Jain SK, Kannan K, Prouty L, Jain SK. Progesterone, but not 17 beta-estradiol, increases TNF-alpha secretion in U937 monocytes. Cytokine, 2004; 26(3): 102-5.

[40] Wahl SM. Transforming growth factor beta: the good, the bad, and the ugly.*J Exp Med* 1994; 180(5): 1587-90.

[41] Zhu Y, Roth-Eichhorn S, Braun N, Culmsee C, Rami A, Krieglstein J. The expression of transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) in hippocampal neurons: a temporary upregulated protein level after transient forebrain ischemia in the rat. *Brain Res* 2000; 866(1-2): 286-98.

[42] Hatthachote P, Gillespie JI. Complex interactions between sex steroids and cytokines in the human pregnant myometrium: evidence for an autocrine signaling system at term. *Endocrinology* 1999; 140(6): 2533-40.

[43] Lenzlinger PM, Morganti-Kossmann MC, Laurer HL, McIntosh TK. The duality of the inflammatory response to traumatic brain injury. *Mol Neurobiol* 2001; 24(1-3): 169-81.

[44] Erythrocyte indicators of oxidative changes 44. Nayak CD, Nayak DM, Raja A, Rao A. in patients with graded traumatic head injury. *Neurol India* 2008; 56(1): 31-5.

[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]

# Neuroprotection Effect of Female Sex Steroids after Traumatic Brain Injury in Rats: the Role of Inflammatory Cytokines

**A.R. Sarkaki[1], M. Khaksari Haddad[2], Z. Soltani[3], Z. Keshavarzi[4], N. Shahrokhi[5], G.R. Asadi Karam[6], R. Abbassi[7]**

**Received: 19/04/10 Sent for Revision: 02/06/10 Received Revised Manuscript: 29/09/10 Accepted: 26/12/10**

**Background and Objectives:** Previous studies have demonstrated estrogen and progesterone decrease brain edema induced by TBI. The aim of the present study was to determine whether ovarian hormones decrease brain edema by change in concentrations of proinflammatory cytokines.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 98 ovariectomized female rats (except groups 1 and 2) were divided into groups of control, sham, vehicle, low does of estrogen (E1), high dose of estrogen (E2), low dose of progesterone (P1) and high dose of progesterone (P2). Vehicle and sexual steroid hormones were injected intraperitoneally at 0.5 h after Moderate and diffuse TBI induced by Marmarou method. Brain level of cytokines and ovarian hormones were measured 6 h after TBI by ELISA method.

**Results:** Both E2 and P1 caused significant increase of 52.8% and 79.2% in brain level of IL-1β. P2 significantly decreased the levels of IL-6 and TNF-α by 45.9% and 72% respectively. TGF-β level seem to be decreased by E1 up to 3.37 times significantly. Level of β-Estradiol increased 4.58 times in E2 group and progesterone increased 1.56 times in P2 group significantly.

**Conclusion:** This results suggested that ovarian hormones increased brain IL-1β and TGF-β and decreased IL-6 and TNF-α, this may be one mechanism by which hormones reduce cerebral edema.

**Key words:** TBI, Ovarian hormones, IL-1β, IL-6, TNF-α, TGF-β

**Funding:** This research was financially supported by Ahwaz Physiology Research Center and Kerman Neuroscience Research Center (KNRC).

**Conflict of interest:** None declared.

**Ethical approval:** The Ethics Committee of Vice Chancellor of Kerman University of Medical Sciences, approved the study (Ethical cod:EC/KNRC/87-19

**How to cite this article**: Sarkaki AR, Khaksari Haddad M, Soltani Z, Keshavarzi Z, Shahrokhi N, Asadi Karam GR, Abbassi R. Neuroprotection Effect of Female Sex Steroids after Traumatic Brain Injury in Rats: the Role of Inflammatory Cytokines. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2011; 10(1): 46-61. [Farsi]

*1- Associate Prof., Dept. of Physiology, Physiology Research Center, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahwaz, Iran*
*Corresponding Author, Tel: (0611) 3738248, Fax: (0611) 3361544, E-mail: sarkaki_a@yahoo.com*
*2- Prof., Dept. of Physiology, Physiology Research Center Dept. of Physiology and Bam International Unit, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran*
*3- MSc; Neuroscience Research Center of Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran*
*4- PhD Student Dept. of Physiology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran*
*5- Assistant Prof., Dept of Physiology, Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran*
*6- Associate Prof., Dept of Biochemical Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran*
*7- General Physician, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran*



[ Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-10-23 ]

[ DOR: 20.1001.1.17353165.1390.10.1.17.7 ]